



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
MEDICINA

“PREVALENCIA DE VARIANTES GERMINALES
PATOGENICAS EN 148 GENES DE PREDISPOSICIÓN A
CÁNCER EN UNA POBLACIÓN PERUANA REFERIDA AL
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN GENÓMICA”

“PREVALENCE OF PATHOGENIC GERMLINE VARIANTS
IN 148 CANCER PREDISPOSITION GENES IN A PERUVIAN
POPULATION REFERRED TO THE GENOMIC RESEARCH
INSTITUTE”

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR POR EL
TÍTULO DE ESPECIALISTA EN GENÉTICA

AUTOR

RICHARD SAUL RODRIGUEZ QUISPE

ASESOR

YASSER CIRO SULLCAHUAMAN ALLENDE

LIMA – PERÚ

2021

RESUMEN

Introducción: El cáncer es un problema de salud global y de causa multifactorial. Las variantes germinales patogénicas en genes asociados a predisposición a cáncer representan hasta un 10% de todos los casos de cáncer. Actualmente, existen más genes que *BRCA1/BRCA2* asociados a un riesgo mayor a la población general para desarrollar cáncer. En Perú, se ha reportado la prevalencia de mutaciones en *BRCA1/BRCA2* en pacientes con cáncer de mama. Sin embargo, es importante reportar que existen variantes germinales en más genes asociados a diferentes cánceres en población peruana no publicadas previamente y que tienen aplicación en la práctica clínica. **Objetivo:** Estimar la prevalencia, características y significancia clínica de las variantes germinales patogénicas detectadas en genes de predisposición a cáncer en una población peruana. **Material y método:** Se realizará un estudio observacional, descriptivo y transversal. Se estudiará a pacientes con diagnóstico de cáncer que fueron referidos al Instituto de Investigación Genómica para secuenciación masiva de 148 genes de predisposición a cáncer entre 01 julio de 2020 y 30 de junio de 2021. Las características demográficas y clínicas se presentarán mediante estadística descriptiva. La prevalencia de variantes germinales con significancia clínica se determinará del total de pacientes estudiados. La interpretación clínica de las variantes se realizará de acuerdo a las recomendaciones *American College of Medical Genetics and Genomics*. La representación gráfica de las frecuencias, características y significancia clínica se realizarán mediante RStudio Desktop *Open Source Edition* versión 1.4 (RStudio, Inc.).

Palabras Clave: Variante genética, Predisposición genética, Cáncer hereditario, *Next Generation Sequencing*.

INTRODUCCIÓN

El cáncer es un problema de salud global y de causa multifactorial (1). Las variantes germinales patogénicas en genes asociados a predisposición a cáncer, también conocidos como cáncer hereditario, representan alrededor del 10% de los casos de cáncer y confieren un riesgo mayor a la población general para desarrollar cáncer (2-5). El impacto clínico de la detección de una variante germinal patogénica es que permite establecer estrategias de control de riesgo oncológico en el paciente y los miembros de la familia que sean portadores de la variante (6-8).

Desde la publicación del primer borrador genoma humano en el 2001 (9, 10), se han publicado actualizaciones del Genoma Humano de Referencia hasta su versión reciente GRCh38, mejorando el análisis y detección de variaciones genómicas mediante tecnologías de secuenciación (11, 12). Sin embargo, es un desafío en curso obtener un genoma humano de referencia representativo de las diversas poblaciones y es necesario los esfuerzos colaborativos en investigación genómica para una mejor comprensión de los genes de predisposición a cáncer en diferentes poblaciones (13, 14).

El acceso a las tecnologías de secuenciación masiva (NGS, *Next Generation Sequencing*) permitió la detección de variantes germinales patogénicas en múltiples genes asociados a predisposición a cáncer más allá de *BRCA1/BRCA2* (15-18). En 2015, el *American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)* publicó las pautas para la interpretación clínica de las variantes germinales detectadas por NGS para fomentar la coherencia en la práctica clínica (19).

En Perú, en 2014 estimaron una prevalencia de 5% de pacientes con cáncer de mama portadoras de variantes germinales en los genes *BRCA1/BRCA2* de un total de 266 pacientes (20). En 2021, reportamos la detección temprana de cáncer gástrico y de mama durante el control de riesgo oncológico en una portadora de la variante patogénica c.3955_3958dup en el gen *ATM* (21). Sin embargo, no hay publicaciones previas que estimen la frecuencia de más genes que *BRCA1/BRCA2* asociados a predisposición genética en población peruana mediante NGS, ya descritas en Latinoamérica (22, 23).

En este protocolo, estimaremos la prevalencia de variantes germinales en una población peruana con sospecha clínica de predisposición a cáncer, usando un panel de 148 genes no publicado previamente. El resultado contribuirá a la epidemiología de predisposición genética a cáncer en población peruana, futuros proyectos en grandes cohortes y una mejor interpretación de los resultados NGS en la práctica clínica.

OBJETIVOS

Objetivo principal:

Estimar la prevalencia de variantes germinales patogénicas en 148 genes de predisposición a cáncer en pacientes referidos al Instituto de Investigación Genómica entre 01 de julio 2020 y 30 de junio de 2021.

Objetivo específicos:

1. Determinar las características de las variantes germinales en 148 genes de predisposición a cáncer en pacientes referidos al Instituto de Investigación Genómica entre 01 de julio 2020 y 30 de junio de 2021.
2. Determinar la significancia clínica de las variantes germinales en 148 genes de predisposición a cáncer en pacientes referidos al Instituto de Investigación Genómica entre 01 de julio 2020 y 30 de junio de 2021.
3. Determinar las variantes germinales patogénicas nuevas en 148 genes de predisposición a cáncer en pacientes referidos al Instituto de Investigación Genómica entre 01 de julio 2020 y 30 de junio de 2021.

MATERIAL Y MÉTODO

Diseño del estudio:

Observacional, descriptivo y transversal.

Población y muestra:

Todos los pacientes con diagnóstico de cáncer y con probable predisposición genética a cáncer referidos al Instituto de Investigación Genómica para secuenciación masiva de 148 genes de predisposición genética a cáncer entre 01 julio de 2020 y 30 de junio de 2021.

Criterios de inclusión:

- Nacionalidad peruana.
- Mayor de 18 años.
- Diagnóstico definitivo de cáncer.
- Criterio de sospecha de predisposición a cáncer.
- Prueba genética de panel de 148 genes de predisposición a cáncer.

Criterios de exclusión:

- Pacientes asintomáticos y/o no oncológicos.
- Paciente con cáncer y/o prueba genética dirigida a un solo gen, exoma o genoma.

Definición operacional de variables

Variable	Definición conceptual	Tipo de variable	Escala de Medición	Indicadores	Instrumento de medición
Variante genética	El cambio de uno o más nucleótidos en la secuencia del ADN de un gen en comparación con el Genoma Humano de Referencia	Cualitativa	Nominal	Detectada No detectada	Reporte de resultado de NGS del Instituto de Investigación Genómica
Características de las variantes genéticas	Conjuntos de datos que corresponden a una variante genética: 1. Nombre del Gen = Gen 2. Tipo de variante = Tipo v. 3. Efecto de la variante = Efecto v. 4. Cromosoma = # Chr 5. Exón = # Ex 6. Posición en el genoma = P. genoma 7. Secuencia cDNA = Seq. cDNA 8. Secuencia Proteína = Seq. Proteína 9. Secuencia de Referencia = RefSeq 10. Código internacional de variantes de nucleótido único = dbSNP 11. Predictores de patogenicidad <i>in silico</i> = Pred. <i>in silico</i> (MT, SIFT y Polyphen) 12. Datos de conservación = Conserv. (GERP++) 13. Frecuencia alélica poblacional = FA (ExAC, gnomAD) 14. Estatus en ClinVar = ClinVar	Cualitativa	Nominal	1. Gen 2. Tipo v. 3. Efecto v. 4. # Chr. 5. # Ex. 6. P. genoma 7. Seq. cDNA 8. Seq. Proteína 9. RefSeq 10. dbSNP 11. Pred. <i>in silico</i> (MT, SIFT y Polyphen) 12. Conserva. (GERP++) 13. FA (ExAC, gnomAD) 14. ClinVar	Genoma Humano de Referencia GRCh37 Ensembl Genome Browser dbSNP VEP (Ensembl Variant Effect Predictor) gnomAD ClinVar
Significancia clínica	Interpretación clínica de la variante de interés de acuerdo a los criterios de ACMG.	Cualitativa	Nominal	1. Patogénica 2. Probablemente Patogénica 3. Significado incierto 4. Probablemente benigna 5. Benigna	Recomendaciones de ACMG 2015
Variante <i>novel</i>	Variante genética no reportada previamente.	Cualitativa	Nominal	<i>Novel</i> Conocida	Bases de datos: gnomAD, ClinVar y dbSNP

Edad	Edad del sujeto de estudio	Cuantitativa	Intervalo	Años cumplidos	Registro del Instituto de Investigación Genómica
Sexo	Conjunto de caracteres que identifican al sujeto de estudio como varón o mujer.	Cualitativa	Nominal	Varón Mujer	Registro del Instituto de Investigación Genómica
Tipo de cáncer	Diagnóstico de cáncer definido por resultado de patología.	Cualitativa	Nominal	Cáncer de mama Cáncer de ovario etc.	Registro del Instituto de Investigación Genómica
Tipo de muestra	Colección biológica que contiene ADN del sujeto de estudio.	Cualitativa	Nominal	muestra de saliva muestra de sangre periférica	Registro del Instituto de Investigación Genómica

Procedimientos y técnicas

Se seleccionará a los sujetos de estudio de acuerdo a los criterios de inclusión de la información proporcionada por el Instituto de Investigación Genómica del registro de todos los pacientes referidos para secuenciación masiva entre 01 de julio de 2020 y 30 de junio de 2021. Se elaborará una base de datos (Anexo 1) a partir de la información obtenida de los reportes del panel de 148 genes de predisposición genética a cáncer de cada paciente seleccionado, el mismo que se detalla en la tabla de operacionalización de variables.

Aspectos éticos del estudio

Se presentará el protocolo al Comité Institucional de Ética en Investigación de la universidad Peruana Cayetano Heredia para su aprobación y posterior ejecución. Así mismo, el estudio solo analizará los datos obtenidos del reporte de NGS y no implica ningún riesgo físico ni de exposición de identidad ya que durante todo el proceso se garantizará la anonimización del sujeto de estudio mediante el uso de ID.

Plan de análisis

Las características demográficas y clínicas de los pacientes se presentarán mediante estadística descriptiva. La prevalencia de variantes germinales con significancia clínica se estimará del total de pacientes estudiados en dicho periodo.

Para describir las características de las variantes se utilizarán las siguientes bases de datos: genoma de referencia GRCh38/hg38 disponible en <http://hgdownload.soe.ucsc.edu/>, nomenclatura HGVS disponible en <http://varnomen.hgvs.org/>, MedGen disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/medgen/>, UniProt disponible en <https://www.uniprot.org/>, ExAC y gnomAD disponibles en <https://gnomad.broadinstitute.org/>, dbSNP disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>, ClinVar disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>, las herramientas de predicción *in silico* disponible en <https://www.ensembl.org/Tools/VEP>.

Para determinar la significancia clínica de la variante se utilizará las recomendaciones del ACMG para la interpretación clínica de variantes germinales, que consiste en una suma de criterios para categorizar una variante como: patogénica, probablemente patogénica, de significado incierto, probablemente benigno y benigno. Además, revisaremos los criterios del panel de expertos para genes específicos aprobados por ClinGen.

La representación gráfica de las frecuencias, características y significancia clínica se realizarán mediante RStudio Desktop *Open Source Edition* versión 1.4 (RStudio, Inc.).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wu S, Zhu W, Thompson P, Hannun YA. Evaluating intrinsic and non-intrinsic cancer risk factors. *Nat Commun.* 2018;9(1):3490. doi: 10.1038/s41467-018-05467-z.
2. Rasnic R, Linial N, Linial M. Expanding cancer predisposition genes with ultra-rare cancer-exclusive human variations. *Sci Rep.* 2020;10(1):13462. doi: 10.1038/s41598-020-70494-0.
3. Huang KL, Mashl RJ, Wu Y, Ritter DI, Wang J, Oh C, et al. Pathogenic Germline Variants in 10,389 Adult Cancers. *Cell.* 2018;173(2):355-370.e14. doi: 10.1016/j.cell.2018.03.039.
4. Lu C, Xie M, Wendl MC, Wang J, McLellan MD, Leiserson MD, et al. Patterns and functional implications of rare germline variants across 12 cancer types. *Nat Commun.* 2015;6:10086. doi: 10.1038/ncomms10086.
5. Rahman N. Realizing the promise of cancer predisposition genes. *Nature.* 2014;505(7483):302-8. doi: 10.1038/nature12981.
6. Hampel H, Bennett RL, Buchanan A, Pearlman R, Wiesner GL. A practice guideline from the American College of Medical Genetics and Genomics and the National Society of Genetic Counselors: referral indications for cancer predisposition assessment. *Genet Med.* 2015;17(1):70-87. doi: 10.1038/gim.2014.147.
7. Daly MB, Pal T, Berry MP, Buys SS, Dickson P, Domchek SM, et al. Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast, Ovarian, and Pancreatic, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw.* 2021;19(1):77-102. doi: 10.6004/jnccn.2021.0001.
8. Gupta S, Provenzale D, Llor X, Halverson AL, Grady W, Chung DC, et al. NCCN Guidelines Insights: Genetic/Familial High-Risk Assessment: Colorectal, Version 2.2019. *J Natl Compr Canc Netw.* 2019;17(9):1032-1041. doi: 10.6004/jnccn.2019.0044.
9. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature.* 2001;409(6822):860-921. doi: 10.1038/35057062.
10. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. *Science.* 2001;291(5507):1304-51. doi: 10.1126/science.1058040.
11. Church DM, Schneider VA, Steinberg KM, Schatz MC, Quinlan AR, Chin CS, et al. Extending reference assembly models. *Genome Biol.* 2015;16(1):13. doi: 10.1186/s13059-015-0587-3.
12. Miga KH, Wang T. The Need for a Human Pangenome Reference Sequence. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* Forthcoming 2021. doi: 10.1146/annurev-genom-120120-081921.
13. Oak N, Cherniack AD, Mashl RJ; TCGA Analysis Network, Hirsch FR, Ding L, et al. Ancestry-specific predisposing germline variants in cancer. *Genome Med.* 2020;12(1):51. doi: 10.1186/s13073-020-00744-3.
14. Bentley AR, Callier S, Rotimi CN. Diversity and inclusion in genomic research: why the uneven progress? *J Community Genet.* 2017;8(4):255-266. doi: 10.1007/s12687-017-0316-6.
15. Robson ME, Bradbury AR, Arun B, Domchek SM, Ford JM, Hampel HL, et al. American Society of Clinical Oncology Policy Statement Update: Genetic and

- Genomic Testing for Cancer Susceptibility. *J Clin Oncol*. 2015;33(31):3660-7. doi: 10.1200/JCO.2015.63.0996.
16. Tsaousis GN, Papadopoulou E, Apeessos A, Agiannitopoulos K, Pepe G, Kampouri S, et al. Analysis of hereditary cancer syndromes by using a panel of genes: novel and multiple pathogenic mutations. *BMC Cancer*. 2019;19(1):535. doi: 10.1186/s12885-019-5756-4.
 17. LaDuca H, Stuenkel AJ, Dolinsky JS, Keiles S, Tandy S, Pesaran T, et al. Utilization of multigene panels in hereditary cancer predisposition testing: analysis of more than 2,000 patients. *Genet Med*. 2014;16(11):830-7. doi: 10.1038/gim.2014.40.
 18. Kurian AW, Hare EE, Mills MA, Kingham KE, McPherson L, Whittemore AS, et al. Clinical evaluation of a multiple-gene sequencing panel for hereditary cancer risk assessment. *J Clin Oncol*. 2014;32(19):2001-9. doi: 10.1200/JCO.2013.53.6607.
 19. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405-24. doi: 10.1038/gim.2015.30.
 20. Abugattas J, Llacuachaqui M, Allende YS, Velásquez AA, Velarde R, Cotrina J, et al. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations in unselected breast cancer patients from Peru. *Clin Genet*. 2015;88(4):371-5. doi: 10.1111/cge.12505.
 21. Rodriguez RS, Cornejo-Olivas M, Bazalar-Montoya J, Sarapura-Castro E, Torres-Loarte M, Rivera-Valdivia A, et al. Novel Compound Heterozygous Mutation c.3955_3958dup and c.5825C>T in the ATM Gene: Clinical Evidence of Ataxia-Telangiectasia and Cancer in a Peruvian Family. *Mol Syndromol*. Forthcoming 2021. doi: 10.1159/000515696
 22. Oliver J, Quezada Urban R, Franco Cortés CA, Díaz Velásquez CE, Montealegre Paez AL, Pacheco-Orozco RA, et al. Latin American Study of Hereditary Breast and Ovarian Cancer LACAM: A Genomic Epidemiology Approach. *Front Oncol*. 2019;9:1429. doi: 10.3389/fonc.2019.01429.
 23. Della Valle A, Rossi BM, Palmero EI, Antelo M, Vaccaro CA, López-Kostner F, et al. A snapshot of current genetic testing practice in Lynch syndrome: The results of a representative survey of 33 Latin American existing centres/registries. *Eur J Cancer*. 2019;119:112-121. doi: 10.1016/j.ejca.2019.07.017.

PRESUPUESTO Y CRONOGRAMA

Presupuesto

Recursos	Unidad de medida	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Humanos				
Asesor	Persona	1	-	-
Investigador principal	Persona	1	-	-
Materiales				
Lapiceros	Unidad	10	0.50	5
Papel bond	Millar	1	20	20
Tinta para impresora	Unidad	1	50	50
Servicios				
Internet	Mes	12	50	600
Google One	Mes	12	6.49	64.99
Total				739.99

Cronograma

Actividades	Jun 21	Jul 21	Ago 21	Set 21	Oct 21
I. Planificación					
Elaboración del protocolo	X				
Aprobación del protocolo		X			
II. Ejecución					
Recolección y análisis de datos			X		
Elaboración de resultados				X	
III. Informe final					
Elaboración del informe final					X
IV. Publicación					
Envío a una revista científica					X

ANEXOS

Base de datos de las variantes germinales detectadas en panel de 148 genes de predisposición a cáncer por NGS en el Instituto de Investigación Genómica entre 01 julio de 2020 y 30 junio de 2021.

ID	Edad	Sex	Tipo c.	Tipo m.	Gen	Tipo v.	Efecto v.	# Chr	# Ex.	P. genoma	Seq. cADN	Seq. proteína	RefSeq	dbSNP	Pred. <i>in silico</i> MT, SIF PolyPhen	Conserva. (GERP++)	FA (ExAC, gnomAD)	ClinVar	ACMG	V. <i>novo</i>
1																				
2																				
3																				
4																				
5																				
6																				
7																				
8																				
9																				
10																				
...																				